

ZAŁĄCZNIK II

AUTOREFERAT

(OPIS DOROBKU I OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH)

DR INŻ. PIOTR NIEDBAŁA

ZAKŁAD HODOWLI TRZODY CHLEWNEJ
I DROBNEGO INWENTARZA,
INSTYTUT NAUK O ZWIERZĘTACH,
WYDZIAŁ HODOWLI I BIOLOGII ZWIERZĄT
UNIwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Tel. (12) 662 40 79

e-mail: p.niedbala@ur.krakow.pl

Kraków, 2019

1. Dane personalne

Imię i Nazwisko: Piotr Niedbała

Data urodzenia: 26 maj 1969 r.

Miejsce urodzenia: Mielec

Miejsce pracy: Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie
Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Zakład Hodowli Trzody Chlewnej i Drobno Inwentarza
Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków
Tel. (012) 662 40 79
e-mail: p.niedbala@ur.krakow.pl

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

- 27 lipiec 1993** **magister inżynier zootechnik**, Akademia Rolnicza im. H. Kołłątaja w Krakowie, Wydział Zootechniczny.
Tytuł pracy: **Ocena płodności samców jenotów na podstawie zmian wielkości i konsystencji jąder oraz przebiegu spermatogenezy**
promotor: dr Olga Szeleszczuk
- 11 czerwiec 2003** **doktor nauk rolniczych** w zakresie zootechniki, specjalność: hodowla zwierząt futerkowych, Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt.
Tytuł pracy: **Właściwości biologiczne i biochemiczne oraz przydatność do mrożenia nasienia jenotów hodowlanych (*Nyctereutes procyonoides* Gray)**
promotor: dr hab. Olga Szeleszczuk
recenzenci: Prof. dr hab. Stanisław Jarosz
Prof. dr hab. Jerzy Strzeżek

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- 1991 – 1992 student stażysta, Katedra Hodowli Zwierząt Futerkowych, Akademia Rolnicza im. H. Kołłątaja w Krakowie
- 1992 – 1993 pomoc techniczna, Katedra Hodowli Zwierząt Futerkowych Akademia Rolnicza im. H. Kołłątaja w Krakowie
- 1993 – 1994 starszy referent techniczny, Katedra Hodowli Zwierząt Futerkowych Akademia Rolnicza im. H. Kołłątaja w Krakowie

- 1994 – 2004 asystent naukowo-dydaktyczny, Katedra Hodowli Zwierząt Futerkowych, Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie
- 2004 – 2004 adiunkt naukowo-dydaktyczny, Katedra Hodowli Zwierząt Futerkowych, Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie
- 2004 – 2007 adiunkt naukowo-dydaktyczny, Katedra Hodowli Drobego Inwentarza Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie
- 2007 – 2014 adiunkt naukowo-dydaktyczny, Katedra Hodowli Drobiu Zwierząt Futerkowych i Zoohigieny, Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie
- 2014 – **nadal** adiunkt naukowo-dydaktyczny, **Zakład Hodowli Trzody Chlewnej i Drobego Inwentarza, Instytut Nauk o Zwierzętach, Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie**

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki – Dz. U. 2016 r. poz.882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz.1311.):

a) Tytuł osiągnięcia naukowego

Podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego jest monografia:

Piotr Niedbała. **Wpływ pory roku i wieku zwierząt na parametry biologiczne nasienia szynszyli hodowlanych (*Chinchilla lanigera*)**. 2019.

Wydawnictwo Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie.

Recenzenci:

Dr hab. Andrzej Jakubczak, prof. UP,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Dr hab. Dorota Banaszewska, prof. UP-H,
Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach

b) Omówienie celu naukowego w/w pracy i osiągniętych wyników oraz ich ewentualnego wykorzystania

Wprowadzenie

Hodowla fermowa szynszyli w Polsce ma już ponad sześćdziesięcioletnią tradycję. Nasz kraj należy do grupy największych światowych producentów skór tych zwierząt. Jednak, wyniki rozrodu na fermach wskazują na niepełne wykorzystanie ich potencjału rozrodczego. Samice szynszyli są zwierzętami niskoplennymi o stosunkowo długim okresie ciąży. Stąd też wprowadzenie do stada samców nieplodnych lub o obniżonej płodności skutkuje negatywnymi konsekwencjami, szczególnie przy powszechnie stosowanym na fermach poligamicznym systemie krycia. Celowym staje się zatem ostra selekcja, nie tylko pod kątem wartości hodowlanej, ale również płodności samców szynszyli fermowych. Na

taką konieczność zwracali już uwagę Jarosz [1993] oraz Szatkowska i in. [1996], którzy płodność samców uważali za istotny czynnik selekcyjny przy ich wyborze do rozplodu.

Pierwsze doniesienia o parametrach biologicznych nasienia szynszyli oparte były na badaniach prowadzonych przez Weir [1966, 1967], Healey i Weir [1967] oraz Calderon-Fernández [1976]. Po raz pierwszy elektroejakulację do uzyskiwania nasienia od szynszyli zastosowali Dalziel i Phillips [1948] następnie Hillemann i in. [1963]. Badania te prowadzili jednak na zwierzętach, które utrzymywane były w warunkach zbliżonych do środowiska naturalnego. Dopiero Carrascosa i in. [2001] oraz Ponzio i in. [2007] dopracowywali metodę pozyskiwania nasienia oraz skupili się nad jego konserwacją w stanie płynnym. Zaznaczyć jednak należy, że pierwsze próby konserwacji nasienia szynszyli w niskich temperaturach przeprowadzili już na przełomie lat 60-tych i 70-tych XX wieku Healey [1969] oraz Healey i Weir [1970] określając wpływ tego procesu na ultrastrukturę plemników. Barnabe i in. [1994] opracowali lub zmodyfikowali rozcieńczalniki przydatne do kriokonserwacji nasienia szynszyli. Natomiast Ponce i in. [1998b] wykazali, że elektroejakulacja może być metodą pozyskiwania ejakulatów o wysokich parametrach biologicznych. W kolejnych latach te badania kontynuowali Ponce i in. [1998a], Ponzio i in. [2007] oraz Ponzio i in. [2008]. Wszyscy wyżej cytowani autorzy stosowali jednak elektroejakulację bez wcześniej wykonanej analgezji. Dopiero Busso i in. [2005a] zastosowali ketaminę do wcześniejszej premedykacji zwierząt. Wykazali jednak, że wpływa ona negatywnie na jej skuteczność i na objętość pozyskanego nasienia. Ponce i in. [1998a], Woolley [2003] oraz Gramajo-Bühler i in. [2016] prowadzili natomiast badania na plemnikach pozyskanych z najądrzy poprzez ich punkcję

Częste pobieranie nasienia za pomocą elektroejakulacji może wpływać na pogorszenie się parametrów nasienia. Ponzio i in. [2011] pobierając nasienie raz w tygodniu wykazali, że aktywność α -glukozydazy obojętnej (wyznacznika funkcjonowania najądrza) może jedynie ulegać wahaniom, a obniżeniu może podlegać masa ciała zwierząt i to na początku cyklu.

Rozwojowe i wzrostowe zmiany strukturalne jąder związane z uzyskiwaniem dojrzałości płciowej określali Leal i França [2008]. Autorzy ci kontynuowali te badania w następnych latach określając efektywność komórek Sertoliego i dzienną produkcję plemników [Leal i França 2009]. Pomiarami morfometrycznymi komórek Leydiga zajmowali się natomiast Surmacki i in. [2011], a uzyskane wyniki wykazały, że pomiędzy sezonami o obniżonej i podwyższonej aktywności płciowej istnieją wyraźne różnice w wielkości, powierzchni oraz objętości tych komórek oraz ich jąder.

Przedmiotem badań była również morfometria części składowych układu rozrodczego samców szynszyli. Adaro i in. [1999] określając indeksy gonado-somatyczne, stwierdzili, że występują istotne różnice pomiędzy tymi indeksami w różnych porach roku. Badania te kontynuowali Cepeda i in. [1999], Oróstegui i in. [2000], Cepeda i in. [2006] oraz Gramajo-Bühler i in. [2016].

Pozyskiwanie nasienia za pomocą elektroejakulacji bez znieczulenia stosowano u innych gatunków dość rzadko. Ten sposób wykorzystano u pancernika sześciopasmowego w jednym z brazylijskich ogrodów zoologicznych [Serafim i in. 2010], a ostatnio u kozłów w Urugwaju [Abril-Sánchez i in. 2017]. U samców innych gatunków zwierząt domowych stosowano jednak premedykację przed tym zabiegiem. Podawano na przykład medetomidynę jako środek znieczulający i uspokajający u kotów [Zambelli i in. 2008] lub łączono ją z ketaminą [Nowotny i in. 2015]. Natomiast nasienie od lam pobierano po ich uspokojeniu i znieczuleniu ketaminą i ksylazyną [Giuliano i in. 2008]. U zwierząt dzikich jest wręcz niemożliwe pobranie nasienia bez wczesnej narkozy. Stosowano ksylazynę z: etorfiną u bawołów afrykańskich [Brown i in. 1991], karfentanylem u bawolców [Metrione i in. 2008], ketaminą u leniwców [Peres i in. 2008] czy też medetomidyną u lwów [Lueders i in. 2012].

Zgodnie z przepisami Unii Europejskiej stosowanie elektroejakulacji u zwierząt gospodarskich nie jest możliwe, bez wcześniejszej odpowiedniej analgezji i sedacji. Aby taką ocenę przeprowadzić przyżyciowo istnieje potrzeba dobrania optymalnych preparatów farmakologicznych stosowanych w neuroleptoanalgezji przed elektroejakulacją tak, aby była ona skuteczna, bezpieczna i ograniczająca stres, pozwalając jednocześnie na uzyskanie od samców nutrii nasienia, które nie będzie koagulować [Szeleszczuk 1999].

Badania prowadzone na spokrewnionych z szynszylami świnkach morskich [Moor i in. 1986] i wiskaczach [Morale i Cavicchia 1993] wykazały, że u samców tych gatunków występują sezonowe zmiany w aktywności spermatogennej jąder. Według Gromadzkiej-Ostrowskiej [1998] analogiczne zjawisko występuje też u szynszyli, chociaż może być ono niwelowane pod wpływem długoletniej hodowli. Na polskich fermach wyróżnia się dwa okresy o różnej aktywności rozplodowej samic [Szeleszczuk i in. 2017]. Można zatem przypuszczać, że taką sezonową zmiennością parametrów nasienia charakteryzują się też samce szynszyli. Wspomniana sezonowość wpływa również na skład biochemiczny plazmy nasienia i wydzielin dodatkowych gruczołów płciowych.

Szynszyle należą do zwierząt długowiecznych, które w hodowli mogą być użytkowane rozplodowo przez dłuższy okres czasu [Seremak i Sulik 2004]. Z tego też względu interesującym i szczególnie ważnym dla praktyki fermowej zagadnieniem byłoby

sprawdzenie jakości nasienia samców w różnym wieku, jak również uzyskanie odpowiedzi na pytanie jak długo zasadne jest utrzymywanie samców rozplodowych. Na polskich fermach obserwuje się wyraźne zróżnicowanie częstotliwości i liczby wykotów w poszczególnych miesiącach. Przekłada się to oczywiście na intensywność kryć, ale skutkuje również tym, że młode samce dojrzałość płciową uzyskują w różnych porach roku. Interesującym byłoby określenie wpływu pory roku na parametry nasienia samców w zależności od pory roku, w której następuje uzyskanie dojrzałości rozrodczej, to jest wieku 8-9 miesięcy oraz na ich zdolności rozplodowe.

Dlatego celem podjętych badań było określenie wpływu:

- pory roku i długości użytkowania rozplodowego samców na parametry biologiczne nasienia oraz aktywność wybranych enzymów plemnikowych i plazmy nasienia,
- wieku uzyskania dojrzałości rozplodowej w zależności od pory roku, na parametry nasienia młodych samców
- okresu aktywności rozplodowej i wieku samców na poziomy wybranych składników biochemicznych i mineralnych plazmy nasienia oraz wydzielin gruczołów płciowych

Materiał i metody

Wszystkie badania zostały wykonane za zgodą I Lokalnej Komisji Etycznej w Krakowie w ramach własnego projektu badawczego (Nr N311 297235) pt. „Wpływ wieku i pory roku na morfologiczne i funkcjonalne zmiany plemników oraz aktywność sekrecyjną dodatkowych gruczołów płciowych u szynszyli hodowlanych (*Chinchilla lanigera*)”.

Badania zostały wykonane w latach 2007-2016 na nasieniu pozyskanym od 80 samców szynszyli hodowlanej w wieku od 8 miesiąca do 9 roku życia, w zależności od etapu badań. Na podstawie wcześniejszych badań wykonanych w ramach własnego projektu badawczego zastosowano premedykację składającą się z ketaminy i ksylazyny. Określając wpływ pory roku (w tym okresów o różnej aktywności rozplodowej) i wieku samców na parametry nasienia, badania wykonano na ejakulatach pobranych od 60 samców w trzech grupach wiekowych:

- Grupa I – samce (18 sztuk) w I roku użytkowania rozplodowego,
- Grupa II – samce (24 sztuk) od 2 do końca 5 roku użytkowania rozplodowego,
- Grupa III – samce (18 sztuk) od 6 roku użytkowania rozplodowego.

Wpływ pory roku na parametry nasienia młodych zwierząt, określano na ejakulatach pobranych od 31 dojrzałych płciowo samców, które wiek 8-9 miesięcy życia osiągnęły w

poszczególnych porach roku oraz okresach aktywności rozplodowej podwyższonej (OPAR) i obniżonej (OOAR).

Oceny makro- i mikroskopowej ejakulatów dokonywano według ogólnie przyjętych zasad [Bielański 1977], ale zmodyfikowaną metodą dostosowaną do oceny nasienia szynszyli. W nasieniu oznaczono również aktywność: akrosyny metodą Kennedy'ego i in. [1989], aminotransferazy asparaginowej (AspAT), dehydrogenazy mleczanowej (LDH) i fosfatazy zasadowej (ALP) metodami kinetycznymi z wykorzystaniem gotowych zestawów biochemicznych (P.H.P.U ALLMED, Kraków, Polska).

Oznaczenia poziomów: białka całkowitego, albumin, glukozy, triacylogliceroli, cholesterolu, wapnia, magnezu, potasu, sodu i żelaza w plazmie nasienia i wydzielinach gruczołów płciowych wykonano na analizatorze biochemicznym COBAS INTEGRA 400 plus Firmy ROCHE. Poziom fruktozy oznaczano metodą Manna, a kwasu cytrynowego metodą Specka w modyfikacji Manna [Strzeżek i Wołos 2001]. Profil kwasów tłuszczowych plazmy nasienia oznaczono zmodyfikowaną metodą Folcha i in. [1975].

Wyniki

Efektywność elektroejakulacji w analgezji i sedacji ksylazyną i ketaminą, wyniosła średnio 50%. Najwyższą uzyskano wiosną, a najniższą jesienią. W okresie podwyższonej aktywności rozplodowej (OPAR) skuteczność pozyskiwania nasienia była wyraźnie wyższa od efektywności w okresie obniżonej aktywności rozplodowej (OOAR). Ocenie poddano łącznie 140 ejakulatów.

Test niezależności χ^2 nie wykazał istotnych różnic, w procentowym udziale poszczególnych klas barwy i konsystencji nasienia w obrębie pór roku, ale najmniej ejakulatów najlepszej barwy białej i konsystencji śmietany stwierdzono jesienią podobnie jak w okresie obniżonej aktywności rozplodowej. Obserwowano wyraźne zróżnicowanie objętości ejakulatów w poszczególnych porach roku. Największe objętościowo ejakulatory uzyskano wiosną i w OPAR.

Najwyższą koncentrację plemników w pozyskanym nasieniu obserwowano latem, ale nie różniła się ona istotnie w nasieniu pozyskanym zimą i na wiosnę. Najniższa jesienna koncentracja i mała objętość ejakulatów w tym okresie oznaczały czterokrotnie niższą całkowitą liczbę plemników w ejakulacie, najwyższą natomiast stwierdzono w nasieniu pozyskanym wiosną. Dwukrotnie wyższą całkowitą liczbą plemników w ejakulacie obserwowano w OPAR niż w OOAR. We wszystkich porach roku i w obu okresach

aktywności rozplodowej obserwowano wyrównaną liczbę plemników ruchliwych i o ruchu postępowym.

Najwyższy odsetek plemników o budowie prawidłowej obserwowano w OPAR oraz wiosną i zimą. W tej ostatniej porze roku stwierdzono najmniej plemników zmienionych pierwotnie. Najwięcej plemników zmienionych wtórnie obserwowano w OOAR oraz jesienią, w której dominowały plemniki z protoplazmatyczną kroplą ze zmienionym akrosomem.

W pozyskanym od samców szynszyli nasieniu najniższą aktywność akrosyny obserwowano jesienią. Najniższą aktywność AspAT natomiast obserwowano na wiosnę. Najwyższe aktywności LDH i ALP stwierdzono latem, natomiast w OPAR wyższa była tylko aktywność akrosyny.

Odnosząc aktywności oznaczanych enzymów do określonej liczby 10^6 plemników, stwierdzono, że aktywność akrosyny była wyższa wiosną niż w pozostałych porach roku. O połowę niższą jej aktywność obserwowano jesienią. Z kolei aktywność AspAT i LDH wiosną były najniższe. Najwyższą aktywność AspAT obserwowano w nasieniu pozyskanym latem. Natomiast aktywności ALP we wszystkich porach roku były porównywalne. W OPAR aktywność akrosyny była wyższa od jej aktywności w OOAR. Natomiast aktywności LDH oraz AspAT w tym okresie były niższe.

Samce w pierwszym roku użytkowania rozplodowego charakteryzowały się nieco słabszymi parametrami makroskopowej oceny nasienia. Ejakulatory samców powyżej drugiego roku użytkowania rozplodowego nie odbiegały od siebie barwą i konsystencją. Objętość nasienia samców w kolejnych latach użytkowania rozplodowego nieistotnie się obniżała. Podobnie nieistotnie obniżała się całkowita liczba plemników w ejakulacie. Pozostałe parametry oceny mikroskopowej i morfologicznej plemników nie różniły się w kolejnych latach użytkowania rozplodowego samców szynszyli.

Najwyższą aktywność akrosyny obserwowano w nasieniu samców najmłodszych w pierwszym roku użytkowania rozplodowego a najniższą w ejakulatach samców najstarszych powyżej szóstego roku użytkowania. Aktywności AspAT i LDH wzrosły od drugiego roku użytkowania, natomiast aktywność ALP wyraźnie się obniżyła w nasieniu samców od 6 roku użytkowania.

Odnosząc aktywności oznaczanych enzymów do określonej liczby 10^6 plemników, długość użytkowania rozplodowego samców nie spowodowała zmian aktywności akrosyny. Aktywności AspAT i LDH wzrastały od drugiego roku użytkowania, natomiast aktywność ALP w nasieniu samców od szóstego roku użytkowania wyraźnie się obniżyła.

Przeprowadzono 62 próby pobierania nasienia od 8-9 miesięcznych samców, w których uzyskano 35 ejakulatów o zróżnicowanych parametrach biologicznych. Prawie trzykrotnie wyższą efektywność metody osiągnięto u zwierząt, które osiągnęły dojrzałość rozrodczą na wiosnę niż w jesieni. Analogicznie w OPAR skuteczność metody była prawie dwukrotnie wyższa niż w OOAR.

Największy udział ejakulatów o barwie białej i konsystencji śmietany u 8-9 miesięcznych samców obserwowany wiosną. W OOAR dominowały ejakulatory o szaro-białym zabarwieniem i konsystencji mlecznej. Największe objętości ejakulatów stwierdzono wiosną, a najmniejsze latem. Podobnie w OPAR uzyskano większe objętościowo ejakulatory niż w OOAR. Obserwowano duże wahania koncentracji i całkowitej liczby plemników w ejakulacie, których latem z powodu zbyt małej objętości pozyskanego nasienia nie określono, podobnie jak nie oznaczono aktywności enzymów. Natomiast wyższą koncentrację plemników w nasieniu 8-9 miesięcznych samców stwierdzono w OPAR.

Latem odsetek plemników ruchliwych był drastycznie niski w porównaniu do ich ruchliwości w innych porach roku. Analogicznie w OPAR stwierdzono dwukrotnie więcej ruchliwych plemników niż OOAR. W okresie lata podobnie jak w OOAR najczęściej obserwowano od 20 do 40% plemników o ruchu postępowym.

Udział plemników o budowie prawidłowej był wyraźnie wyższy w OPAR niż w pozostałym okresie. Udział plemników z wadami pierwotnymi był wyższy latem. Dominowały wówczas plemniki z niedorozwiniętą wtką oraz ich nieukształtowane formy. Plemników wtórnie uszkodzonych było więcej w nasieniu 8-9 miesięcznych samców w OOAR.

Najwyższą aktywność akrosyny w ejakulatach 8-9 miesięcznych samców obserwowano zawsze wiosną. Najniższe aktywności akrosyny, AspAT i LDH w nasieniu tych zwierząt odnotowano jesienią i w OOAR.

Obserwowano wahania w zawartości wybranych składników biochemicznych w plazmie nasienia szynszyli. Stwierdzono wyraźny wpływ pory roku na stężenie triacylogliceroli, których poziom był niższy jesienią. Podział roku na dwa okresy wyraźnie wykazał, że w OOAR mniej było wszystkich oznaczanych składników biochemicznych, za wyjątkiem kwasu cytrynowego. Tylko na stężenie sodu i żelaza w plazmie nasienia szynszyli pory roku i okresy aktywności rozplodowej nie miały wpływu. Najniższe poziomy wapnia, magnezu oraz potasu stwierdzono latem i w OOAR. Wiek oraz długość użytkowania samców nie wpłynęły istotnie na zmiany poziomów składników biochemicznych i mineralnych w plazmie nasienia pozyskanego od doświadczalnych szynszyli. Analiza wykazała, że 85%

kwasów tłuszczowych w nasieniu szynszyli stanowiły kwasy: oleinowy, palmitynowy, stearynowy i linolowy.

W wydzielinach jąder samców od drugiego roku użytkowania rozplodowego stwierdzono wzrost poziomu trójglicerydów. Podobnie w wydzielinach najądrzy i gruczołu krokowego stężenie tego składnika w tej grupie zwierząt było wyższe. Ponadto w OPAR w wydzielinach najądrzy obserwowano wyższe poziomy wapnia i magnezu.

Poziomy białek i albumin oraz wapnia, magnezu i potasu w wydzielinach gruczołów pęcherzykowych były niższe w OOAR. W wydzielinach pozyskanych z gruczołów opuszkowo-cewkowych stwierdzono wyższe stężenie glukozy w pierwszym roku użytkowania rozplodowego oraz wyższy poziom żelaza w OPAR.

Nie stwierdzono wpływu okresu aktywności rozplodowej i wieku zwierząt na zawartość fruktozy i kwasu cytrynowego w wydzielinach jąder oraz najądrzy samców szynszyli. Wyraźnie wyższy poziom fruktozy obserwowano w pozyskanych wydzielinach gruczołów pęcherzykowych w OPAR. Natomiast w tym okresie wyższy był poziom kwasu cytrynowego w wydzielinach gruczołu krokowego. Kwasu cytrynowego było również więcej w wydzielinach gruczołów opuszkowo-cewkowych szynszyli, ale tylko w pierwszym roku użytkowania rozplodowego.

Podsumowując wyniki przeprowadzonych badań można stwierdzić, że stosowanie znieczulenia infuzyjnego preparatami ketaminy i ksylazyny w jednej iniekcji domięśniowej u samców szynszyli pozwala uzyskać zadowalający wynik elektro ejakulacji, natomiast optymalnym okresem do jej wykonania była wiosna oraz zima szczególnie u zwierząt młodych.

Zmienne w poszczególnych porach roku parametry nasienia, wyraźnie niższe ich wartości w ocenie makro i mikroskopowej jesienią, wyższe aktywności AspAT i LDH w okresie letnio-jesiennym i wyższa aktywność akrosyny wiosną i zimą pozwalają stwierdzić, że u samców obserwuje się sezonową zmienność nasienia.

Niższe nieistotnie objętości nasienia i ilości plemników w ejakulatach, ale istotne obniżone aktywności akrosyny i ALP oraz podwyższona aktywność AspAT w płazmie nasienia sugerują, że dłuższe niż sześć lat użytkowanie rozplodowe samców nie jest wskazane.

Pełną zdolność reprodukcyjną uzyskały samce, które dojrzałość rozplodowa i wiek 8–9 miesięcy, osiągnęły w zimie i na wiosnę. Natomiast samce urodzone w okresie od września do grudnia, które wiek 8–9 miesięcy uzyskały w okresie letnim takiej zdolności rozplodowej jeszcze nie osiągnęły. Zatem nie powinny być w tym wieku łączone z samicami.

Celowym wydaje się kontynuowanie badań nad poprawą efektywności pozyskiwania nasienia od samców szynszyli fermowej.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych

Działalność naukowo-badawczą rozpocząłem od badań nad rozrodem jenotów jednego z popularnych hodowlanych zwierząt futerkowych. Pracę magisterską pt. „Ocena płodności samców jenotów na podstawie zmian wielkości i konsystencji jąder oraz przebiegu spermatogenezy” wykonałem pod kierunkiem dr Olgi Szeleszczuk w ówczesnej Katedrze Hodowli Zwierząt Futerkowych. Od tego momentu moja działalność naukowa skupiła się na zagadnieniach związanych z wpływem czynników genetycznych i środowiskowych na rozród, zdrowotność oraz jakość produktów pozyskiwanych od mięsożernych (skóry) i roślinożernych (mięso) zwierząt futerkowych.

Od początku mojego zatrudnienia w Katedrze Hodowli Zwierząt Futerkowych Akademii Rolniczej w Krakowie, tj. od listopada 1991 roku uczestniczyłem czynnie w badaniach prowadzonych w Katedrze, a dotyczących problematyki związanej z chowem i hodowlą zwierząt futerkowych. Efektem tego zaangażowania było współautorstwo w pracach opublikowanych w czasopiśmie naukowych oraz w doniesieniach prezentowanych na międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych.

Wyniki badań przed uzyskaniem stopnia doktora przedstawiono w pracach: B.1, B.2, B.3, B.4, B.5, B.6, B.7, B.8, C.1, C.2, C.3, C.4, C.5, C.6, C.7, C.8

W ramach badań prowadzonych w Katedrze analizowano zmiany rozwojowe jąder jenotów hodowlanych w okresie od odsadzenia do uzyskania dojrzałości płciowej. Określano zmiany wielkości jąder i najądrzy oraz poziomu testosteronu w surowicy krwi. W badaniach histologicznych określono średnicę kanalików nasiennych jąder i przewodu najądrzy jak również indeksy spermatogenne. Zmiany wartości wszystkich parametrów były dodatnio skorelowane z poziomem testosteronu, który maksymalne stężenie w surowicy krwi osiągnął w styczniu. Także w styczniu pozostałe badane parametry uzyskiwały wysokie wartości, za wyjątkiem indeksu spermatogennego osiągającego wartość maksymalną miesiąc wcześniej (**B.1, C.1**).

Współpraca z pracownikami CSHZ oraz fermami zaowocowała publikacjami poruszającymi tematykę zdrowia fermowych zwierząt. Celem tych badań była, między innymi, ocena stanu zdrowotnego tchórzki hodowlanych w wybranych fermach ze

szczególnym uwzględnieniem występowania plazmocytozy (choroby aleuckiej) u nerek, należących do tej samej rodziny zwierząt łasicowatych. Badania sekcyjne wykazały, że prawie u 64% tchórzy, u których wystąpiły problemy z rozrodem, stwierdzono gruźlicę, zmiany zapalne wątroby, obrzęk śledziony czy też stany zapalne nerek. Należy podkreślić, że u 2,3% tchórzy fermowych zdiagnozowano chorobę aleucką potwierdzoną swoistym testem CIEP (**B.2**).

Prowadząc dalsze badania terenowe określono parazytofaunę przewodu pokarmowego szynszyli na wybranych fermach południowej Polski. Badania wykazały, że wiosną od 60 do prawie 90% przebadanych zwierząt było nosicielami pasożytów, natomiast jesienią udział zarażonych zwierząt był niższy i wahał się od 20 do 70% osobników. W przewodzie pokarmowym wykryto pasożyty jelitowe z rodzaju: *Eimeria*, *Trichiuris* i *Trichostrongylus sp.* (**B.3**).

Celem kolejnych badań było określenie poziomu metali ciężkich (Co, Cu, Mn, Zn, Cd, Fe i Pb) w nerkach, wątrobie i śledzionie fermowych lisów polarnych. Wykazano, że poziom Zn i Fe w narządach wewnętrznych lisów polarnych był nawet kilkakrotnie wyższy niż w analogicznych narządach nerek czy lisów pospolitych (**B.4**).

Podjęto również próbę określenia przyczyn spadku płodności i plenności samic lisów polarnych w polskich fermach. W jednej z badanych ferm wskaźnik samic pokrytych wyniósł tylko 36,5%, a średnia liczba szceniąt odchowanych z miotu nie przekroczyła nawet jednej sztuki. Badania te wykazały, że obniżenie plenności lisów polarnych mogło być spowodowane negatywną korelacją pomiędzy cechami okrywy włosowej a cechami reprodukcyjnymi. Wykazana wysoka śmiertelność szceniąt w okresie do odsadzenia, mogła być spowodowana stwierdzoną inwazją pasożytów przewodu pokarmowego, względnie anemią samic stada podstawowego (**B.5, C.2, C.4**).

Określano również spermatogenną i steroidogenną aktywność jąder samców nutrii w zależności od pory roku w trzech grupach wiekowych (4, 6 i 10 miesięcy życia). W okresie od września do lutego, czyli w okresie zwiększonej aktywności rozrodczej, niezależnie od grupy wiekowej, w jądrach samców obserwowano wyraźny wzrost aktywności dehydrogenazy $\Delta 53\beta$ hydroksysteroidowej oraz indeksu spermatogennego (**C.3**).

Celem następnych badań było określenie tempa wzrostu nutrii hodowlanych od urodzenia do odsadzenia w zależności od terminu urodzenia i liczebności miotu. Najlepsze wyniki odchowu młodych nutrii uzyskiwano, gdy masa ciała noworodków mieściła się w

przedziale 190 a 270 g. Noworodki z masą ciała poniżej 150 g były najczęściej niezdolne do przeżycia, natomiast cięższe, powyżej 450 g często ginęły podczas porodu. Większą masę ciała miały noworodki z mniej licznych miotów, urodzone w okresie zimowym oraz samce. Przy odsadzeniu takich różnic już nie stwierdzono **(C.5)**.

Analizie poddano również zawartość składników mineralnych w okrywie włosowej samic nutrii w zależności od ich stanu fizjologicznego. Wykazano, że w okrywie włosowej najwięcej było wapnia, a najmniej kadmu. Zawartość pozostałych pierwiastków układała się malejąco w następujący szereg: magnez, potas, sód, żelazo, cynk, miedź, mangan, kobalt i ołów. Jedynie na poziom cynku nie wpłynął stan fizjologiczny samic i miejsce pobrania okrywy do analizy. Na poziom wapnia, żelaza, magnezu i kobaltu istotny wpływ miało miejsce pobrania włosa. Wyraźnie wyższe były poziomy: wapnia, potasu, sodu, żelaza i manganu w dniu porodu niż przed pokryciem samicy i po odsadzeniu potomstwa **(B.6)**.

Dla poprawy wielkości zwierząt i parametrów okrywy włosowej utrzymywanych w Polsce lisów polarnych zaimportowano z Finlandii odmianę lisów określanych jako „gigant”. Po kilku latach dokonano analizy wpływu zakupionej stawki zwierząt na wyniki rozplodu lisów utrzymywanych w polskich hodowlach. Wykazano, że zwierzęta wprowadzone do hodowli oraz ich krzyżówki z polskimi lisami, cechowały się lepszymi wynikami rozplodu niż zwierzęta rodzime, wskazywało na dobrą aklimatyzację i adaptację zwierząt importowanych do nowych warunków chowu. Ponadto uzyskane większe skóry przyczyniły się do poprawy rentowności hodowli, umożliwiając przetrwanie kryzysu na rynku futrzarskim **(C.6)**.

W ramach badań środowiskowych określano warunki zoohigieniczne panujące w katedralnej fermie nutrii w Rząsce. Większość parametrów mikroklimatycznych w budynku inwentarskim mieściła się w granicach norm zoohigienicznych dla tego typu pomieszczeń. Określono również wpływ fermi nutrii na otaczające środowisko zewnętrzne. Wszystkie wyizolowane bakterie i grzyby były saprofitami. Nie wyizolowano patogennych pałeczek i gronkowców. Mikrobiologiczna analiza wody z ujęcia leżącego w pobliżu hodowli również nie wykazała obecności patogennych mikroorganizmów i woda uzyskała I klasę czystości. Zwierzęta były w dobrej kondycji zdrowotnej i rozplodowej, co oznaczało, że w budynku inwentarskim stworzono korzystne środowisko hodowlane odpowiadające wymaganiom nutrii **(B.7, B.8, C.7)**.

Od czasu odkrycia polimorfizmu genetycznego u zwierząt zainteresowanie naukowców i praktyków skoncentrowało się na możliwościach jego powiązania z cechami produkcyjnymi oraz zdolnościami przystosowawczymi zwierząt do warunków środowiskowych. Wiedza ta może dać podstawy do dokładniejszej i wcześniejszej selekcji zwierząt pod względem różnych cech produkcyjnych.

Badania własne rozpoczęto od oceny morfologii chromosomów u nutrii odmiany standardowej i grenlandzkiej oraz ich mieszańców. Chromosomy te wykazują specyficzny i charakterystyczny dla tego gatunku układ prążków C, ilustrujący występowanie konstytutywnej heterochromatyny. Wzór rozmieszczenia prążków C u wszystkich badanych sztuk nutrii był identyczny, co pozwoliło na stwierdzenie, że u tego gatunku istnieje wysoko specyficzny wzór C prążków (C.8).

W 2003 roku obroniłem pracę doktorską pt. „Właściwości biologiczne i biochemiczne oraz przydatność do mrożenia nasienia jenotów hodowlanych (*Nyctereutes procyonoides* Gray) wykonaną pod kierunkiem dr hab. Olgi Szeleszczuk. W ramach rozprawy doktorskiej, drogą prób i błędów opracowano własną metodę pozyskiwania nasienia. Przeprowadzono również wstępną i szczegółową ocenę pobranego nasienia. Pełnowartościowe ejakulatory uzyskiwano poczynając od trzeciej dekady lutego do końca marca, dwa lub trzy razy w tygodniu w godzinach rannych. Wybrane próbki poddawano konserwacji w niskich temperaturach trzema metodami. W metodzie I krioprotektor (glicerol) dodawano po schłodzeniu nasienia w temperaturze +4°C. W metodzie II dodawano go od początku rozrzedzania to jest w +37°C. W obu wymienionych metodach wykorzystano rozcieńczalniki zawierające w swoim składzie EDTA z różnym udziałem glicerolu. W metodzie III obniżono temperaturę konserwacji z +37°C do temperatury pokojowej, oraz zastosowano rozcieńczalniki zawierające TRIS, różniące się składem i udziałem krioprotektora, który dodawano podobnie jak w metodzie II.

Wyniki badań przeprowadzonych w ramach dysertacji doktorskiej przedstawiono w pracach: B.9, B.10, B.13, B.18, C.9, C.10, C.12

Prowadząc badania nad nasieniem jenotów hodowlanych zastosowano dwie metody pozyskiwania ejakulatów: manualną i elektroejakulację. Elektroejakulacja, mimo wyraźnie większej objętości ejakulatów ze względu na wyraźnie niższą efektywność oraz znacznie gorsze makroskopowe oraz mikroskopowe parametry pozyskanego nasienia, okazała się metodą niewskazaną dla jenotów. Nasienie często zawierało w swoim składzie mocz.

Kontynuowano badania i dopracowano metodę manualną pobierania nasienia. Wzrosła objętość pozyskanych ejakulatów a parametry makro- i mikroskopowe nasienia znacznie się poprawiły pomimo nieco niższej koncentracji plemników (**B.9, B.10**).

Podjęto badania nad opracowaniem metod (z jedno- i dwustopniową ekwilibracją) konserwacji nasienia jenotów hodowlanych w niskich temperaturach. Wyraźnie wyższy udział plemników ruchliwych po rozmrożeniu, wskazywał metodę z zastosowaniem jednostopniowej ekwilibracją, jako bardziej przydatną. Wykazano jednak, że obie metody prowadzą do zwiększonego wycieku aminotransferazy asparaginowej do otoczenia plemników po ich rozmrożeniu. Przy czym ekwilibracja jednostopniowa w większym stopniu ograniczała ten wyciek i lepiej ochraniała akrosom plemników przed ich uszkodzaniem w procesie zamrażania/rozmrażania. W jednostopniowej metodzie ekwilibracji aktywność akrosyny była znacznie wyższa niż w dwustopniowej. Oceniono również wpływ różnego dodatku glicerolu (4%, 6% i 10%) do rozcieńczalnika na występowanie uszkodzeń morfologicznych plemników podczas ich konserwacji w niskich temperaturach. Najmniej przydatnym okazał się rozcieńczalnik z 6% udziałem glicerolu, a najlepszym był rozcieńczalnik z jego 10% udziałem. Najbardziej wrażliwymi na uszkodzenia okazały się akrosomy i witki plemników. Jednak niska ruchliwość plemników po rozmrożeniu sugerowała, że rozcieńczalnik EDTA jest raczej mniej przydatnym do konserwacji nasienia samców tego gatunku w niskich temperaturach (**B.13, B.18, C.9, C.12**).

W pozyskanym od samców jenotów nasieniu określono również poziom wybranych składników mineralnych. Makroelementy, ze względu na ich zawartość, ułożono je w szereg od największego do najmniejszego: Na, P, K i Mn, Mg, a mikroelementy w kolejny szereg: Zn, Fe i Cu. Poziom Na był ujemnie skorelowany z poziomami Mg i P, który z kolei był dodatnio skorelowany z poziomami Cu i K. Zawartość K była dodatnio skorelowana tylko z zawartością Zn (**C.10**).

Wyniki badań po uzyskaniu stopnia doktora przedstawiono w pracach: A.1, A.2, A.3, A.4, A.5, A.6, A.7, A.8, A.9, A.10, A.11, A.12, A.13, B.11, B.12, B.14, B.15, B.16, B.17, B.19, B.20, B.21, B.22, B.23, B.24, B.25, B.26, B.27, B.28, B.29, B.30, B.31, C.11, C.13, C.14, C.15, C.16, C.17, M.1, M.2, M.3, M.4, P.6, P.11

Na samcach nutrii z KHZF w Rzęsce przeprowadzono badania morfometrii i struktury układu rozrodczego w zależności od wieku i pory roku. Wykazano, że w okresie podwyższonej aktywności rozplodowej, narządy układu rozrodczego, z wyjątkiem najądrzy,

były większe i cięższe. Podobnie zmieniała się grubość ścian i średnica kanalików nasiennych jąder. Natomiast pora roku nie miała wpływu jedynie na średnicę kanalików nasiennych najądrzy (**B.11**).

Koncentrację makroelementów (Ca, Mg, Na i K) określano również w kościach, mózgu, nerkach, wątrobie, płucach, śledzionie, sercu, mięśniach i ścianie żołądków oraz jajnikach i jądrach jenotów hodowlanych. Stwierdzono istotny wpływ płci zwierząt na poziom tych pierwiastków w kościach, nerkach i wątrobie. W kościach samców stężenia: Ca, Mg i Na były wyższe niż w kościach samic. Natomiast w nerkach samic stwierdzono wyższy poziom: Mg, Na i K. Tylko poziom K w wątrobie samic był wyższy niż w wątrobie samców. W jądrach zawsze obserwowano nieistotnie wyższy poziom tych pierwiastków niż w jajnikach (**A.1**). W tych samych narządach jenotów hodowlanych określono również stężenie mikroelementów (Fe, Cu, Zn, Mn). Obserwowano wyższy poziom Zn w nerkach i wątrobie a Cu w sercu i mięśniach samic w porównaniu z samcami. W kościach samców jenotów hodowlanych wyższa była koncentracja Mn, a w ich mózgach stwierdzono wyższą zawartość Cu (**B.14**).

W dalszych badaniach nad rozrodem jenotów fermowych analizie poddano użytkowość rozplodową samców hodowlanych na dwóch wybranych farmach różniących się liczebnością samic stada podstawowego. Wykazano, że w hodowli utrzymującej mniejszą liczbę samic, samce rozplodowo użytkowano o rok dłużej. W hodowli z większą liczbą samic, samce były bardziej aktywne i prawie dwukrotnie częściej kryły samice, automatycznie uzyskano po nich wyższą plenność. Najaktywniejsze rozplodowo były samce w drugim i trzecim roku, natomiast największą liczbę szczeniąt osiągnięto od nich dopiero w czwartym roku użytkowania (**B.16, B.17**).

Analizie poddano również zależności między wiekiem i temperamentem a wskaźnikami rozrodu samic jenotów hodowlanych w wybranych fermach Polski. Wykazano, że większość fermowych samic jenotów jest ufna i nie wykazuje nadmiernej pobudliwości. Brakowanie najbardziej agresywnych zwierząt ze stada podstawowego nie poprawia istotnie wyników reprodukcyjnych, ale może ułatwić obsługę zwierząt oraz poprawić ich dobrostan (**A.4**). Uwzględniając jednak liczebność stada podstawowego hodowli, w której utrzymywano większą liczbę samic jenotów, znaczny wzrost agresywności samic prowadził jednak do wyraźnego (aż trzykrotnego) obniżenia liczby szczeniąt odsadzonych (**C.14**).

W badaniach prowadzonych w Katedrze Hodowli Zwierząt Futerkowych analizę wyników rozrodu rozszerzono na samice lisów pospolitych: srebrzystych i rodzimą mutację - lisów białoszyjnych. Wyniki analizy wykazały, że zarówno u samic srebrzystych i białoszyjnych procent samic wykończonych, średnia wielkość miotu oraz liczba szczeniąt odsadzonych są zbliżone. U samic białoszyjnych prawie wcale nie obserwowano samic niepokrytych, roniących czy niszczących swoje mioty (**P.6**).

Rozpoczęto też badania nad parametrami biologicznymi nasienia królików krótkowłosych. Stwierdzono, że nasienie królików Castoreks, a szczególnie kolorowych odmian Reksów charakteryzuje się mniejszą objętością ejakulatów, niepożądaną barwą i konsystencją. Charakteryzuje się również znacznie gorszymi parametrami mikroskopowymi, to jest ruchem plemników, koncentracją i całkowitą ich liczbą w ejakulacie. Ocena morfologiczna plemników wykazała, że w nasieniu wszystkich królików Castorex obserwowano zbliżone udziały plemników o budowie prawidłowej (**B.12, C.11**).

Po raz pierwszy, dokonano szczegółowej analizy morfometrycznej oraz struktury chromatyny plemników lisa srebrzystego z wykorzystaniem trzech technik barwienia plemników: aniline blue (AB), chromomycyn (CMA3) i acridine orange (AO). Zastosowane techniki umożliwiły identyfikację plemników z nieprawidłową retencją histonów. Wykazano, że średnie wartości parametrów morfometrycznych plemników lisa srebrzystego wynosiły odpowiednio: długość i szerokość główki 6,59 μm i 4,39 μm , obwód główki – 17,98 μm , pole główki – 21,69 μm^2 , pole akrosomu – 11,2 μm^2 , zasięg akrosomu – 51,69%, długość wstawki – 12,84 μm , zasięg wstawki 19,72%, długość witki – 65,11 μm , całkowita długość plemnika – 71,70 μm , indeks eliptyczności główki – 1,51, wydłużenie główki – 0,2, pofałdowanie główki – 0,84 i regularność główki – 1,05. Podane wymiary mogą posłużyć za wzorzec poprawnej budowy plemników przy kwalifikacji samców do rozplodu (**B.30**).

Ponieważ mieszańce międzygatunkowe lisów pospolitych i polarnych są bezpłodne, nie można porównać integralności DNA w ich plemnikach z gatunkami rodzicielskimi testem kometowym (SCGE – single cell gel electrophoresis). Dlatego podjęto badania nad wykorzystaniem alkalicznego wariantu tego testu do oceny stopnia uszkodzenia DNA, ale w limfocytach wyizolowanych z pełnej krwi obwodowej. W badaniach wykazano przydatność tego testu do oceny stopnia uszkodzeń struktury DNA w limfocytach bastardów, które są bardziej podatne na spontaniczne powstawanie tego typu uszkodzeń (**M.4**).

Test kometowy (SCGE) wykorzystano również w badaniach nad wpływem 72-godzinnej przechowywania nasienia lisów polarnych w temperaturze +4°C na integralności DNA plemników. Wykazano, że po 48 godzinach przetrzymywania nasienia w chłodni procentowa zawartość DNA w głowie komety wyraźnie się obniżyła, a w ogonie komety prawie dwukrotnie wzrosła. Ten test okazał się czułą i przydatną metodą do oceny integralności DNA plemników lisów polarnych. Tym samym może być wykorzystywany przy ocenie zdolności plemników do zapłodnienia komórki jajowej (C.17).

Przedmiotem badań była również ocena testem kometowym (SCGE) stopnia uszkodzenia DNA w limfocytach z pełnej krwi obwodowej lisów srebrzystych. Podjęto próbę określenia, czy obserwowana zmiana integralności materiału genetycznego była spontaniczna czy została wywołana przez czynniki środowiska zewnętrznego. Wyższą zawartość DNA w ogonie komety jak i wyższy moment ogonowy zaobserwowano u samców, w porównaniu z samicami. Stwierdzono również, że uszkodzenia te miały wyraźnie indukowany charakter i powstały pod wpływem obecnego w środowisku nieokreślonego czynnika genotoksycznego (P.11).

Test wymiany chromatyd siostrzanych (SCE – sister chromatyd exchange) jest cytogenetycznym testem biomonitoringowym służącym do analizy uszkodzeń chromosomu spowodowanych czynnikami zewnętrznymi. Podjęto badania mające określić stężenia BrdU (bromodeoksyurydyny) wpływające na spontaniczną wymianę chromatyd siostrzanych w chromosomach pozyskanych z pełnej krwi obwodowej fermowych lisów polarnych i srebrzystych. Stwierdzono, że wyższe stężenia BrdU wywołały dodatkowe wymiany fragmentów chromatyd w obrębie chromosomu. Lisy polarne charakteryzowały się ponadto większą liczbą centromerowych SCE w stosunku do innych typów. Nie stwierdzono istotnego wpływu środowiska życia i płci zwierząt na rosnącą częstotliwość SCE u obu gatunków lisów (A.12).

W kolejnych badaniach zwrócono uwagę na rozmieszczenie rejonów z konstytutywną heterochromatyną na chromosomach płci dwóch gatunków: nutrii i królików. Wyniki przeprowadzonych badań wykazały wyraźne podobieństwo w budowie i strukturze (wielkości i lokalizacji prążków C) na chromosomach Y nutrii i królików. Stwierdzone analogie mogą być przydatne w diagnostyce zmian chromosomowych u innych gatunków zwierząt futerkowych lub zwierząt dzikich, których kariotypy są mniej poznane (B.19).

W większości badań dotyczących kariotypu szynszyli, analizę prowadzono na chromosomach uzyskanych z hodowli limfocytów. Podjęto badania, których celem było zwiększenie liczby mitoz w komórkach pobranych ze szpiku kostnego poprzez wcześniejsze podanie kolchicyny *in vivo*. Porównując indeksy mitotyczne uzyskane po podaniu kolchicyny stwierdzono istotnie wyższy odsetek dzielących się komórek w grupie doświadczalnej szynszyli (B.22).

Podjęto badania mające na celu modyfikację wzorca kariotypu szynszyli hodowlanej. W przeprowadzonych badaniach wykazano, że zwierzęta charakteryzują się diploidalną liczbą chromosomów $2n=64$, XX-samice oraz $2n=64$, XY-samce, a ich kariotyp składa się wyłącznie z chromosomów dwuramiennych o łącznej liczbie FN=128. Ponadto określono długości względne i bezwzględne dla każdego chromosomu. Na podstawie uzyskanej charakterystyki chromosomów przygotowano i zaproponowano wzorzec prążków G i C dla kariotypu szynszyli hodowlanej. Uzyskane wyniki mogą być wykorzystane w diagnostyce cytogenetycznej zaburzeń reprodukcyjnych u szynszyli, przy selekcji zwierząt hodowlanych, a także mogą stanowić przydatne narzędzie przy mapowaniu genomu tego gatunku (A.6).

Przedmiotem dalszych badań nad rozrodem szynszyli było określenie przydatności dwóch komercyjnych i dwóch laboratoryjnych rozcieńczalników do konserwacji nasieniu w stanie płynnym w $+4^{\circ}\text{C}$ przez 72 godziny. W oparciu o test kometowy SCGE określono również ich wpływ na integralność DNA plemników. Biorąc pod uwagę udział plemników ruchliwych i o ruchu postępowym, ich budowę morfologiczną oraz ilości DNA w głowie i ogonie komety wykazano, że nieprzydatnymi do konserwacji nasienia szynszyli były rozcieńczalniki komercyjne przeznaczone do konserwacji plemników królików oraz knurów. Najbardziej przydatnym rozcieńczalnikiem do konserwacji plemników szynszyli w stanie płynnym okazał się rozcieńczalnik stosowany do konserwacji nasienia psów i ogierów (A. 9).

Test SCE wykorzystano również do określenia częstości występowania spontanicznych i indukowanych wymian chromatyd siostrzanych w chromosomach szynszyli, ze szczególnym uwzględnieniem ich liczby, miejsc na chromosomach i indywidualnych różnic wynikających z wieku i płci. Wykazano, że poziom spontanicznych SCE u szynszyli występuje przy stężeniu BrdU wynoszącym $0,5\mu\text{g/ml}$. Wyższe stężenia tej substancji działają genotoksycznie uszkadzając strukturę DNA chromosomów i indukując dodatkowe SCE w chromosomach tego gatunku. Średnia częstość SCE/cell w populacji szynszyli wynosiła $4,34\pm 1,28$, a wiek miał istotny wpływ na częstość zachodzenia SCE u obydwu płci (A.8). Natomiast spontanicznie zachodzące SCE u nutrii stwierdzono już przy stężeniu $1,0\mu\text{g/ml}$

natomiast u królików nawet przy 0,5µg/ml. Średnia częstość SCE/cell jest niższa u nutrii (1,41±1,15) niż u królików (2,69±2,14) (A.11).

Określono zróżnicowanie osobnicze i populacyjne organizatorów jąderkotwórczych (NOR) w kariotypie szynszyli hodowlanej. Regiony NOR są wykorzystywane, jako model badawczy do zrozumienia zależności między strukturą chromosomową a regulacją i aktywnością genów rRNA w *Eucaryota*. W badaniach wykazano cztery klasy wielkości organizatorów jąderkotwórczych a średnia liczba NOR u szynszyli fermowych wahała się nieistotnie w zależności od tego czy pochodziły one z centralnej czy południowej Polski. Zmienność w wielkości i liczbie NOR w kariotypie szynszyli wskazała na występowanie polimorfizmu NOR w populacji szynszyli w Polsce (A.10).

Celem badań było również określenie u kota domowego stężenia BrdU, przy którym częstotliwość wymiany chromatyd siostrzanych jest najbliższa spontanicznej Oceny dokonano ze szczególnym uwzględnieniem liczby, miejsc występowania oraz różnic międzyosobniczych w obrębie tego gatunku. Stwierdzono, że poziom spontanicznych SCE u kota domowego występuje przy stężeniu BrdU wynoszącym 0,5 µg/ml. Wyższe stężenia tej substancji działały genotoksycznie, uszkadzając dodatkowo strukturę DNA chromosomów i indukując w ten sposób dodatkowe SCE w chromosomach kotów, co może wpływać na zaburzenia rozrodu tych zwierząt (A.5).

Nowym kierunkiem naszych badań była ocena stanu zdrowotnego gruczołów mlecznych i określenie jego wpływu na przeżywalność i odchów młodych jenotów hodowlanych, szczególnie tuż po wykocie. Wykazano, że u samic niszczących potomstwo występował stan zapalny (*mastitis*) gruczołów sutkowych. Świadczył o tym wyraźny wzrost liczby komórek somatycznych w mleku oraz wskazania testów Whiteside'a i TOK. W posiewach wykonanych z mleka samic, które zniszczyły mioty, wyizolowano liczne szczepy bakterii chorobotwórczych. Stany zapalne powodowały bolesność sutków oraz to, że matki stawały się agresywne i zagryzały potomstwo próbujące ssać mleko z bolesnych sutek. Bardzo ważna jest zatem, obserwacja i kontrola gruczołu mlecznego samic w kierunku wykrywania jego zmian patologicznych i zapobiegania stratom w przyszłym sezonie reprodukcyjnym (B.28, C.13).

Pobierano również mleko od samic jenotów oraz lisów pospolitych, określano w nim zawartość tłuszczu oraz profil kwasów tłuszczowych w zależności od fazy laktacji. Mleko pozyskane od samic jenotów i lisów pospolitych charakteryzowało się wysoką zawartością

tłuszczu (12,46%), która stopniowo wzrastała w kolejnych fazach laktacji. W profilu kwasów tłuszczowych mleka badanych samic stwierdzono obecność 18 kwasów. Zawartość większości z nich nie przekraczała 1%. Natomiast łączny udział kwasów: palmitynowego, cis oleinowego i linolowego przekraczał 80% (**B.31**).

Podjęto również próbę wykorzystania wybranych ekstraktów ziołowych do poprawy stanu zdrowia i parametrów okrywy włosowej szynszyli hodowlanych. Badania wykonano na zwierzętach z zaburzeniami żołądkowo-jelitowymi, którym w wodzie do picia podawano ekstrakt z czosnku, rozmarynu i oregano. Wykazano, że ziołowy suplement diety wpłynął korzystnie na wzrost masy ciała, parametry jakościowe okrywy włosowej i behavior zwierząt. Po uboju przeleczonych zwierząt sekcyjnie stwierdzono charakterystyczne otłuszczenie i typowy układ trzewi w jamie brzusznej jak u zdrowych szynszyli (**M.3**).

W pierwszych tygodniach życia poddano analizie morfometrycznej tempo rozwoju przewodu pokarmowego królików żywionych tradycyjnie i mieszankami pełnoporcjowymi, które wzbogacono probiotykiem. W oparciu o uzyskane wyniki stwierdzono, że króliki karmione granulatami (z udziałem lub bez suplementu diety) do dnia odsadzenia nie ukształtowały długiego przewodu pokarmowego. Zwierzęta żywione tradycyjnie paszami gospodarskimi charakteryzowały się znacznie dłuższym przewodem pokarmowym, szczególnie jelita czczego. Natomiast większą masą całego układu pokarmowego w momencie odsadzenia, charakteryzowały się jednak króliki żywione mieszanką pełnoporcjową z dodatkiem probiotyku (**C.15**).

Analogiczne suplementy diety (ekstrakty z czosnku, rozmarynu i oregano), które wykorzystano w żywieniu szynszyli zastosowano również w żywieniu królików. Oceniono wskaźniki odchowu oraz tempo wzrostu królicząt w pierwszych tygodniach życia. Badania wykazały, że dodatek ekstraktów ziołowych do granulatu (po zdiagnozowaniu inwazji kokcydii) nie zmniejszył smakowitości paszy i nieistotnie obniżył upadki młodych zwierząt oraz masę ciała zwierząt w 90 dniu życia. Poprawiła się natomiast zdrowotność królików, a inwazja kokcydii z intensywnej zmniejszyła się do ekstensywnej (**M.2**). Wykazano, że zastosowane suplementy ziołowe nie miały wpływu na przyrosty masy ciała, chociaż najwyższą masę osiągnęły króliki pijące wodę z ekstraktem z czosnku. W tej grupie królików stwierdzono również najniższą średnią liczbę oocyst kokcydii. Pasza z ziołowymi suplementami wpłynęła również pozytywnie na parametry mięsa: kolor, aromat i smakowitość (**A.13**).

Badania, rozszerzono określając stopień zarażenia przewodu pokarmowego królików pasożytami w okresie największego ryzyka ich występowania. Badania wykonano w kontekście poprawy dobrostanu zwierząt, zgodnie z sugestiami zawartymi w rozporządzeniach Unii Europejskiej, zmierzającymi do wyeliminowania powszechnie stosowanych kokcydiostatyków w żywieniu tej grupy zwierząt. Wykazano, że przez kilka ostatnich lat kokcydiozy stanowiły istotny problem w badanej populacji królików szczególnie w grupie zwierząt młodych. Wśród nicieni regularnie występował *Passalurus ambiguus* pinworm. Inne gatunki - *Trichuris leporis* i *Graphidium strigosum* były rzadziej stwierdzane. Najczęściej występujące pasożyty były z rodzaju *Eimeria* i *Passalurus ambiguus* (B.29).

W Katedrze Hodowli Drobiu Zwierząt Futerkowych i Zoohigieny wykonano badania, których celem była ocena wpływu podawanej w paszy flawomycyny, stymulatora wzrostu zapobiegającego infekcjom bakteryjnym w przewodzie pokarmowym, na przyrosty masy ciała młodych nutrii. Wykazano jednak, że stosowanie tego dodatku przez 6 tygodni nie miało znaczącego wpływu na cotygodniowe przyrosty masy ciała nutrii w końcowym okresie tuczu oraz na końcową masę ciała zwierząt (B.15).

Dokonano również charakterystyki mięsa nutrii, porównując je z innymi gatunkami mięs. Pod względem suchej masy mięso nutrii z mięśnia najdłuższego grzbietu zbliżone było do mięsa króliczego, poziomem białka było porównywalne z cielęciną, ale zawierało dwukrotnie więcej tłuszczu niż wieprzowina. Mięso z uda zawierało znacznie więcej suchej masy i tłuszczu oraz mniej białka niż analogiczne mięsa innych gatunków. Badania te kontynuowano i stwierdzono, że mięso nutrii charakteryzowało się mniej korzystnym dla konsumenta stosunkiem wielonienasyconych kwasów tłuszczowych n-6/n-3. Może być mięsem alternatywnym dla innych rodzajów mięs, co pozwoli zachować nutrie, jako gatunek użytkowy w polskiej hodowli (A.2, M.1).

Kolejnym zagadnieniem było porównanie wybranych parametrów mięs, o niskim spożyciu (króliczego i nutriowego) z najbardziej popularnym w Polsce mięsem drobiowym. Stwierdzono wyższą zawartość białka w mięsie króliczym i nutriowym niż w drobiowym. W mięsie nutrii i kurcząt poziom tłuszczu był zbliżony, ale dwukrotnie wyższy niż w mięsie króliczym. Najniższy poziom cholesterolu stwierdzono w mięśniach nóg nutrii, natomiast poziom witaminy E był porównywalny we wszystkich rodzajach mięs. Pod względem zawartości kwasu linolowego (C18:2n-6) i arachidonowego (C20:4n-6) mięso nutriowe było zbliżone do mięsa królików. Zawierało również najmniej kwasów: gamma linolenowego (C18:3), EPA (C20:5n-3) i DHA (C22:6n-3). Natomiast więcej zawierało kwasu α -

linolenowego (C18:3n-3) niż mięso drobiowe. Według przeprowadzonych badań, mięso królicze charakteryzowało się najwyższą jakością. Ale wysoka wartość odżywcza mięsa nutriowego i jego fizykochemiczne parametry wskazują na jego duże właściwości prozdrowotne (**B.23, B.25**).

Kierując się powyższymi spostrzeżeniami celem kolejnych badań było określenie wpływu dodatku oleju z nasion lnu i pestek jabłek do paszy dla nutrii na profil kwasów tłuszczowych w tłuszczu śródmięśniowym, udzie i mięśniu najdłuższym grzbietu. Uzyskane wyniki wyraźnie wykazały, że korzystniej na profil kwasów tłuszczowych wpłynął olej z nasion jabłek niż olej lniany. Produkt ten może być uznany za olej typu „bio” i powinien znaleźć zastosowanie w przemyśle paszowym jak i spożywczym do produkcji żywności o prozdrowotnych właściwościach (**B.24**).

Wykonano również badania, których celem była ocena zdolności termoregulacyjnych szynszyli hodowlanych w reakcji temperatury ich ciała na zmieniającą się temperaturę i wilgotność względną środowiska fermowego. Badania przeprowadzono w trzech hodowlach, w których temperatura mieściła się w przedziale od 10°C do 21°C, a wilgotność względna wynosiła od 10% do 59%. Wykazano, że temperatura otoczenia i wilgotności miały istotny wpływ na zmiany temperatury ciała szynszyli, która wahała się do 32 do 37,4°C. Zwierzęta te miały duże zdolność termoregulacji i reagowały szybkimi zmianami temperatury ciała na zmieniającą się temperaturę i wilgotności otoczenia (**B.20**).

Korzystając z metod termowizyjnych badania kontynuowano i określano różnice w emisji ciepła spowodowane wiekiem i stanem fizjologicznym królików. Dokonywano pomiarów temperatury 4 obszarów ciała zwierząt. Wykazano, że właściwości cieplochronne okrywy królików ulegają zmianie w zależności od wieku i stanu fizjologicznego. Wraz z wzrostem królików (od 2 do 9 tygodnia życia) emitowanie temperatury przez powierzchnię ciała się obniżało a wzrastało emitowanie temperatury przez powierzchnię ucha. Obszarem najbardziej emitującym ciepło królików były okolice narządów płciowych. Najwyższą stwierdzono u samic z objawami popędu płciowego, natomiast najniższa u samic ciężarnych oraz samców (**B.21**).

Współpracując Karelskim Instytutem Biologii (Rosja) podjęto badania, których celem było sprawdzenie, czy implantacja melatoniną modyfikuje odpowiedź systemów antyoksydacyjnych jenotów hodowlanych i lisów srebrzystych. Badania wykazały, że aktywność enzymów antyoksydacyjnych dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) i katalazy (CAT)

oraz stężenia zredukowanego glutationu (GSH) i α -tokoferolu (TCP) jesienią były znacznie wyższe w narządach jenotów w porównaniu z narządami lisów srebrzystych. Oba gatunki różniły się funkcją układu antyoksydacyjnego, oraz odpowiedzią tego układu na egzogenną melatoninę. Jenoty hodowlane możemy uznać za model badań medycznych nad zespołem metabolicznym (A.3).

Określono również wpływ implantu melatoniny na kształtowanie zimowej okrywy włosowej, na poziom generacji reaktywnych form tlenu (ROS) oraz na aktywność enzymów antyoksydacyjnych w wątrobie lisów srebrzystych i polarnych. Wykazano, że wszczepienie implantów melatoniny doprowadziło do przyspieszenia dojrzewania zimowej okrywy włosowej. System antyoksydacyjny lisów polarnych był bardziej wrażliwy na implantację melatoniny niż lisów srebrzystych. Wzrostowa tendencja poziomu anionowego rodnika tlenu u lisów polarnych z implantami melatoniny może być związana z regulacją hormonalną układu odpornościowego w okresie przygotowań do warunków zimowych (B.26).

Aby sprostać wyzwaniom związanym z hipoksją i reoksygenacją podczas nurkowania, zwierzęta żyjące w środowisku wodnym posiadają wielopoziomowe adaptacje. Dlatego celem badań była analiza czynników obrony antyoksydacyjnej i aktywności dehydrogenazy mleczanowej w wybranych narządach bobrów, piżmaków i nutrii. Badania wykazały, że aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) była wyższa, a aktywność katalazy (CAT) niższa prawie we wszystkich narządach piżmaka. Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy aktywnością antyoksydacyjnych enzymów SOD i CAT pomiędzy narządami bobra i nutrii. Większość badanych narządów bobra, jako substrat wykorzystywało w pierwszej kolejności mleczan, a glukozę później. Natomiast w sercu, wątrobie i mięśniach szkieletowych piżmaka stwierdzono wyższe aktywności dehydrogenazy mleczanowej. Wyniki sugerują, że bobry, nutrie i piżmaki mają odrębne mechanizmy adaptacyjne do hipoksji i reoksygenacji (A.7).

Nutrie ze względu na systematycznie malejące pogłowie zwierząt objęto programem ochrony zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich w Polsce. Jednak mała liczebność stad hodowlanych zwiększa ryzyko chowu wsobnego. Dlatego przeprowadzono badania, których celem była analiza rodowodów oraz monitoring różnorodności genetycznej krajowej populacji nutrii objętych tym programem. Stwierdzono, że w najmniejszym stopniu spokrewnione były nutrie standardowe ($R = 0,0425$). Największe spokrewnienie stwierdzono pomiędzy nutriami odmiany perłowej ($R = 0,3136$). Najwyższą wartość współczynnik inbrodu przyjmował w grupie nutrii czarnych ($F = 0,0149$). Pomimo niewielkiej liczebności stad nutrii w Polsce współczynniki pokrewieństwa ($R = 0,0140$) i inbrodu pozostały jednak na

niskim poziomie. Na tej podstawie można stwierdzić, podsumować, że pracę hodowlaną prowadzono prawidłowo, a zwierzęta kojarzono zgodnie z obowiązującymi zasadami (B.27).

Podjęto również badania nad dysfunkcją behawioralną szynszyli (samoogryzaniem okrywy), które jest zaburzeniem obsesyjno-kompulsywnym. Utrata funkcjonowania mutacji w genie *Hoxb8* indukuje symptomy porównywalne z trichotylomanią u ludzi. Celem badań była analiza sekwencji genu *Hoxb8* u samoogryzających się szynszyli pod kątem obecności polimorfizmów pojedynczych nukleotydów. W wyniku analizy molekularnej uzyskano dwa produkty PCR zawierające dwa fragmenty sekwencji kodujących. Na podstawie tych sekwencji wykazano obecność dwóch mutacji punktowych: transwersji A>C, skutkującą zmianą proliny na glicynę oraz tranzycji A>G, zmieniającą kwas asparaginowy na glicynę (C.16).

Literatura wykorzystana w Autoreferacie:

1. **Abril-Sánchez S., Freitas-de-Melo A., Beracochea F., Damián J.P., Giriboni J., Santiago-Moreno J., Ungerfeld R. 2017.** Sperm collection by transrectal ultrasound-guided massage of the accessory sex glands is less stressful than electroejaculation without altering sperm characteristics in conscious goat bucks. *Theriogenology*, 98, 82-87.
2. **Adaro L., Oróstegui C., Olivares R., Villanueva S. 1999.** Variaciones morfológicas del sistema reproductor de la *Chinchilla lanigera* GREY, en cautiverio a través de un año. *Avance en Producción Animal*, 24, 91-95.
3. **Barnabe V.H., Duarte M., Barnabe R.C., Vizintin J.A., Freitas M.T.L. 1994.** Electroejaculation and seminal characteristics in chinchilla (*Chinchilla laniger*). *Braz. J. Vet. Rev. Anim. Sci. Zoot.*, 31, 3/4, 295-297
4. **Bielański W. 1977.** Rozród zwierząt gospodarskich. PWRiL, Warszawa.
5. **Brown J.L., Wildt D.E., Raath J.R., de Vos V., Howard J.G., Janssen D. L., Citino S. B., Bush M. 1991.** Impact of season on seminal characteristics and endocrine status of adult free-ranging African buffalo (*Syncerus caffer*). *J. Reprod. Fert.*, 92, 47-57.
6. **Busso J.M., Ponzio M.F., Chiaraviglio M., Fiol de Cuneo M., Ruiz R.D. 2005.** Electroejaculation in the chinchilla (*Chinchilla laniger*) Effects of anesthesia of seminal characteristics. *Res. Vet. Sci.*, 78, 93-97.

7. **Calderón-Fernández F. 1976.** Alteraciones Bio-Fisiológicas, aplicando el método de electroeyaculación, en la reproducción de la Chinchilla. Tesis doctoral. Depto de Cirugía y Reproducción. Facultad de Veterinaria. Madrid. Espana, pp. 1-6.
8. **Carrascosa R.E., Martini A.C., Ponzio M.F., Busso J.M., Ponce A.A., Lacaure J.L. 2001.** Storage of *Chinchilla lanigera* semen at 4°C for 24 or 72 h with two different cryoprotectants. *Cryobiology*, 42, (4), 301-306.
9. **Cepeda, R.C., Adaro L.A., Peñailillo P.G. 2006.** Variaciones Morfométricas de la Próstata de *Chinchilla laniger* (MOLINA, 1982) y de la Concentración de Testosterona Plasmática Durante un Ciclo Reproductivo Anual. *Int. J. Morphol.*, 24, 89–97.
10. **Cepeda, R., Adaro L., Peñailillo P., Oróstegui C. 1999.** Seasonal morphological variations of bulbourethral glands of chinchilla (*Chinchilla laniger*, Grey) in captivity. *Rev. Chil. Anat.*, 17, 59–66.
11. **Dalziel C.F., Phillips C.L. 1948.** Electric ejaculation. Determination of optimum electric shock to produce ejaculation in chinchillas and guinea-pigs. *Am. J. Vet. Res.*, 9, 225.
12. **Folch J., Lees M., Sloane Stanley G.H. 1975.** A simple method for the isolation purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226. 497-509.
13. **Giuliano S., Director A., Gambarotta M., Trasorras V., Miragaya M. 2008.** Collection method, season and individual variation on seminal characteristics in the llama (*Lama glama*). *Anim. Reprod. Sci.*, 104, 359-369.
14. **Gramajo-Bühler M.C., Pucci F.J., Sanchez-Toranzo G. 2016.** Histological and morphometric study of the epididymis of *Chinchilla lanigera* Grey under controlled conditions in captivity. *Zygote*, 24, 3, 355- 363.
15. **Gromadzka–Ostrowska J. 1998.** Studia nad fizjologią szynszyli ze szczególnym uwzględnieniem rozrodu i odporności. Praca habilitacyjna. Wydawnictwo Naukowe Akademii Rolniczej w Krakowie, Seria Rozprawy nr 238.
16. **Healey P. 1969.** Effect of freezing on the ultrastructure of the spermatozoon of some domestic animals. *J. Reprod. Fert.*, 18, 21-27.
17. **Healey P., Weir J.B. 1967.** A technique for electro-ejaculation in Chinchillas. *J. Reprod. Fert.*, 13, 585-588.

18. **Healey P., Weir J.B. 1970.** Changes in the ultrastructure of Chinchilla spermatozoa in different diluents. *J. Reprod. Fert.*, 21, 191-193.
19. **Hillemann H.H., Gaynor A.I., Dorsch A. 1963.** Artificial insemination in chinchillas. *J. Small Anim. Pract.*, 3, 77.
20. **Jarosz S., 1993.** Hodowla zwierząt futerkowych. PWN, Warszawa – Kraków.
21. **Kennedy W.P., Kaminski M.J., Van Der Van H.H., Jeyendran S.R., Reid S.D., Blackwell J., Bielfield P., Zenevald J.D.L. 1989.** A simple clinical assai to evaluate the acrosin activity of human spermatozoa. *J. Androl.*, 10, 3, 221-231.
22. **Leal M.C., França L.R. 2008.** Postnatal Sertoli and Leydig cell proliferation and the establishment of puberty and sexual maturity in *Chinchilla lanigera* (Rodentia, Chinchillidae). *Reprod. Fert. Develop.*, 20, 665-673.
23. **Leal M.C., França L.R. 2009.** Slow increase of Sertoli cell efficiency and daily sperm production causes delayed establishment of full sexual maturity in the rodent *Chinchilla lanigera*. *Theriogenology*, 71, 509-518.
24. **Lueders I., Luther I., Scheepers G., Van der Horst G. 2012.** Improved semen collection method for wild felids: Urethral catheterization yields high sperm quality in African lions (*Panthera leo*). *Theriogenology*, 78, 696-701.
25. **Metrione L.C., Norton T.M., Beetem D., Penfold L.M. 2008.** Seasonal reproductive characteristics of female and male Jackson's hartebeest (*Alcelaphus buselaphus jacksoni*). *Theriogenology*, 70, 871-879.
26. **Moor J.T., Veneziale C.M., Wieben E.D. 1986.** The effects of androgen on the transcription of specific genes in guinea pig seminal vesicle epithelium. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 46, 205- 214.
27. **Morale A., Cavicchia J.C. 1993.** Seasonal changes of the blood-testis barrier in viscacha: a freeze-fracture and lanthanum tracer study. *Anat. Record.*, 236, 459-464.
28. **Nowotny R., Vitasek R., Bartoskove A., Cizek P., Pronsilova P., Novakova K. 2015.** Azoospermia with variable testicular histology after 7 months of treatment with a deslorelin implant in toms. *Theriogenology*, 83, 1188-1193.
29. **Oróstegui C., Parraguez V., Adaro L., Peñailillo P., Cepeda R. 2000.** Histological and morphometric changes of the seminal vesicles of *Chinchilla laniger* (grey) in captivity, induced by seasonal variations. *Rev. Chil. Anat.*, 18, 89-96.

30. **Peres M.A., Benetti E.J., Milazzotto M.P., Visintin J.A., Miglino M.A., Assumpção M.E.O.A. 2008.** Collection and evaluation of semen from the three-toed sloth (*Bradypus tridactylus*). *Tissue Cell*, 40, 325-331.
31. **Ponce A.A., Aires V.A., Carrascosa R.E., Fiol de Cuneo M., Ruiz R.D. Lacuara J.L., 1998a.** Functional activity of epididymal *Chinchilla laniger* spermatozoa cryopreserved in different extenders. *Res. Vet. Sci.*, 64, 239-243.
32. **Ponce A.A., Carrascosa R.E., Aires V.A., Fiol de Cuneo M., Ruiz R.D., Ponzio M.F., Lacuara J.L. 1998b.** Activity of chinchilla laniger spermatozoa collected by electroejaculation and cryopreserved. *Theriogenology*, 50, 1239-1249.
33. **Ponzio M.F., Busso J.M., Fiol de Cuneo M., Ruiz R.D., Ponce A.A. 2008.** Functional activity of frozen thawed *Chinchilla lanigera* spermatozoa cryopreserved with glycerol or Ethylene Glycol. *Reprod. Dom. Anim.*, 43, 228-233.
34. **Ponzio M.F., Busso J.M., Ruiz R.D., Fiol de Cuneo M. 2007.** Time-related changes in functional activity and capacitation of chinchilla (*Chinchilla lanigera*) spermatozoa during in vitro incubation. *Anim. Reprod. Sci.*, 102, 343-349.
35. **Ponzio M.F., Roussy-Otero G.N., Ruiz R.D., Fiol de Cueno M. 2011.** Seminal quality and neutral alpha-glucosidase activity after sequential electroejaculation of chinchilla (*Ch. lanigera*). *Anim. Reprod. Sci.*, 126, 229-233.
36. **Serafim M.K.B., Lira R.A., Costa L.L.M., Gadelha I.C.N., Freitas C.I.A., Silva A.R. 2010.** Description of semen characteristics from six-banded armadillos (*Euphractus sexcinctus*) collected by electroejaculation. *Anim. Reprod. Sci.*, 118, 362-365.
37. **Seremak B., Sulik M. 2004.** Intensywność i analiza użytkowania rozplodowego samców szynszyli (*Chinchilla lanigera* M.). *Folia Univ. Agric. Stetin., Zoot.*, 235, (46) 59-64.
38. **Strzeżek J., Wołos A. 2001.** Ćwiczenia z biochemii. Wydawnictwo UW-M w Olsztynie.
39. **Surmacki P., Sulik M., Seremak B. 2011.** Morphometric Studium of Leudig Cells In Chinchillas (*Chinchilla lanigera*) during High and Low Fertility Season. *Folia Biol. Krakow*, 59, 3-4, 195-201.

40. **Szatkowska I., Sulik M., Udała J. 1996.** Preliminary study of chinchilla (*Chinchilla velligera*) Semen quality in the contexts of its practical employment in selection. Zesz. Nauk. Przgl. Hod., 27, 265-271.
41. **Szeleszczuk O. 1999.** Charakterystyka nasienia nutrii (*Myocastor coypus* Mol) oraz możliwość farmakologicznego wpływu na jego konsystencję i właściwości biochemiczne. Praca habilitacyjna. Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej w Krakowie, Seria Rozprawy, 257.
42. **Szeleszczuk O., Kowalczyk A., Satoła A. 2017.** Sezonowość w aktywności rozplodowej samców szynszyli na fermie reprodukcyjnej w warunkach klimatycznych Polski południowej. Rocz. Nauk. PTZ, 13, 17-27.
43. **Weir B. J. 1966.** Aspects of reproduction in chinchilla. J. Reprod. Fert., 12, 410.
44. **Weir B.J. 1967.** The care and management of laboratory hystricomorphic rodents. Lab. Anim., 1, 95-104.
45. **Woolley D. M. 2003.** Motility of spermatozoa at surfaces. Reproduction, 126, 259-270.
46. **Zambelli D., Prati F., Cunto M., Iacono E., Merlo B. 2008.** Quality and in vitro fertilizing ability of cryopreserved cat spermatozoa obtained by urethral catheterization after medetomidine administration. Theriogenology, 69, 485-490.

6. Informacja o pełnym dorobku habilitanta

- sumaryczny Impact Factor (IF) za publikacje naukowe wg bazy Journal Citation Reports (JCR) zgodny z rokiem ukazania się pracy – **10,088** (IF_{5letni} – **10,887**)
IF bez suplementów i doniesień – **6,958** (IF_{5letni} – **7,667**)
- ogólna liczba punktów za publikacje naukowe wg wykazu czasopism naukowych MNiSW, zgodnie z rokiem ukazania się pracy – **503**
bez suplementów i doniesień – **443**
- indeks Hirscha wg bazy **Web of Science** (All databases) Cited Reference Search – **3**;
Basic – **3**; wg bazy **Scopus** – **3**
- liczba cytowań: wg bazy **Web of Science** (All databases) Cited Reference Search – **38**
(bez autocytań – **32**); Basic – **27 (21)**; wg bazy **Scopus** - **29 (16)**

Zestawienie publikacji naukowych przed i po uzyskaniu stopnia doktora

Publikacje									
Rodzaj publikacji	Przed doktoratem			Po doktoracie			Ogółem		
	N	IF	P	N	IF	P	N	IF	P
Publikacje w czasopismach z listy A MNiSW	-	-	-	13	<u>6,958</u> <u>7,667</u>	230	13	6,958 7,667	230
Publikacje w czasopismach z listy B MNiSW	8	-	8	23	-	105	31	-	113
Publikacje w suplementach czasopism naukowych	8	-	10	9	-	20	17	-	30
Monografie	-	-	-	1	-	80	1	-	80
Rozdziały w monografiach	-	-	-	4	-	20	4	-	20
Prace przeglądowe i popularnonaukowe	5	-	-	6	-	-	11	-	-
Doniesienia na konferencja i zjazdy	10	-	-	89	<u>3,13</u> <u>3,22</u>	30	99	<u>3,13</u> <u>3,22</u>	30
Łącznie bez suplementów i doniesień	13	-	8	47	6,958 7,667	435	60	6,958 7,667	443
Łącznie	31	-	18	145	10,088 10,887	485	176	10,088 10,887	503

Kursywą i podkreśleniem zaznaczono IF_{5letni};

N – liczba publikacji;

IF – suma Impact Factor wg bazy Journal Citation Reports (JCR) zgodnie z rokiem opublikowania;

P – suma punktów wg wykazu czasopism punktowanych MNiSW zgodnie z rokiem opublikowania

Szczegółowy wykaz opublikowanych przeze mnie prac naukowych wraz z informacją o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki stanowi odrębny załącznik do Wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego.

Kraków, dnia 25 kwietnia 2019 roku

dr inż. Piotr Niedbała